Ueber das Verhalten einiger pathogener Bacterien im Trinkwasser.

Von

Dr. Justyn Karlinski
aus Krakau.

(Aus dem pathologisch-anatomischen Institute der k. k. Universität in Innsbruck.)

Angeregt durch die von Dr. C. Kraus unter gleichem Titel im VI. Band des Archives für Hygiene veröffentlichte Arbeit, welche die Berücksichtigung der für dies Studium einzig richtigen Temperaturverhältnisse zu ganz andern Ergebnissen als die vor ihr veröffentlichten Untersuchungen führte, unternahm ich im Sommer 1888 im pathologisch-anatomischen Institut der Universität Innsbruck eine Reihe von Untersuchungen, deren Zusammenstellung den Inhalt nachstehender Publication bilden soll.

Meine Untersuchungen habe ich auf Typhus-, Cholera- und Milzbrandbacterien ausgedehnt, deren Verhalten im Innsbruck-Wiltener Leitungswasser und im Brunnenwasser des pathologisch-anatomischen Institutes studirt wurde. Die Gemeinde Innsbruck bezieht ihren Wasserbedarf aus mehreren, an der nördlich von der Stadt gelegenen Kalkkette entspringenden Quellen, die in letzter Zeit rationell gefasst, in Cement- oder Eisenröhren geleitet werden. Als Hauptquellen gelten 1. die 841 m hoch entspringende Weinstockquelle, 2. Brandlschroffenquelle (1036 m), 3. die Quelle von »der Lehne« (1089 m), die jedoch bald ihr Wasser mit dem aus der vorigen Quelle stammenden Wasser vereinigt, 4. Wurmbachquelle (1133 m); ausserdem werden einzelne Strassen der Stadt, wie auch die ganze Gemeinde Wilten von der 860 m hoch an der Brennerstrasse entspringenden »Klarahofquellenleitung«

gespeist. Die chemische Zusammensetzung der einzelnen Quellen ist, soweit es mir zugänglich war, nach den Analysen des Prof. Dr. Sennhofer, in nachstehender Tabelle ersichtlich:

pro 1000 ccm

Wasser aus der	Gesammt-Rückstand in mm	Organische Substanzen	Calciumoxyd	Magnesiumoxyd	Härte in deutschen Graden	
					verschwindende	bleibende
I. Wurmbachquelle	0,154	Spuren	0,0055	0,0196	6,5	1,5
II. Weinstockquelle	0,8014	„	0,1716	0,0983	6,7	2,4
III. Vereinigten Brandlschroffen- und Lehne-Quelle	0,1962	„	0,0728	0,0233	6,5	4,0
IV. Klarahofquelle	0,236	„	0,077	0,034	9,5	—

Die Temperaturen einzelner Quellen betrugen nach meiner Messung im Juli: I. 7,8, II. 7,6, III. 7,6, IV. 8,0; im August: I. 7,9, II. 7,8, III. 8,0, IV. 7,9; im September: I. 7,9, II. 8,1, III. 8,0, IV. 7,8. Die Temperaturunterschiede zwischen den Quellen und Auslaufbrunnen der einzelnen Wasserleitungen in der Stadt variirten fast constant um 0,9; die aus einer Reihe von Temperaturmessungen ermittelte Mittelzahl lehrte mich, dass für die Innsbruck-Wiltener Wasserleitung die Temperatur 8,2 für die Monate Juli, August, September die Durchschnittstemperatur bildet. Die bacteriologische Untersuchung der einzelnen Quellenwasser belehrte mich, dass dieselben bacterienarm seien; die Durchschnittszahlen präsentiren sich folgendermaassen:

pro 1 ccm

Wasser aus der	Juli	August	September
I. Wurmbachquelle	8	8	7
II. Weinstockquelle	9	7	7
III. Brandlschroffenquelle . .	9	8	8
IV. Klarahofquelle	7	7	8

welche Zahlen jedesmal als Mittelzahl von Quellwasseruntersuchungen genommen wurden. Zur Untersuchung benützte ich statt des üblichen Plattenverfahrens, welches in Anbetracht der etwaigen Bacterienvermehrung beim Transport der einzelnen Proben, aus den 4—6 Stunden entfernten Quellen ins Laboratorium, mir nicht rathsam schien, Erlmayer'sche Kolben mit 59 qcm Bodenfläche, die mit einer 1/4 cm hohen Schicht von sterilem Nährgelatine versehen, an Ort und Stelle am transportablen Spirituskochapparate verflüssigt, mit entsprechender Menge des untersuchten und mittels sorgfältig ausgeglühter, graduirter und mit einem 2 1/2 cm langen Wattepfropfen versehener Pipette entnommenen Wassers beschickt, daselbst zum Erstarren gebracht wurden. Die weitere Beobachtung geschah in Zimmertemperatur.

Da die Auslaufbrunnen einzelner Leitungen in unmittelbarer Nähe meines Laboratoriums zu finden waren (der entfernteste, und zwar von der Wurmbachquelle gespeiste Auslaufbrunnen im Hofgarten, war 1/4 Stunde entfernt) wurden die entsprechenden sterilen und mit Wasser gefüllten Gefässe mit sterilen Wattepfropfen und Guttaperchakappen versehen, mit nassem Filtrirpapier umwunden, möglichst rasch transportirt. Durch Anwendung des Plattenverfahrens constatirte ich, dass die einzelnen Wasser in den entsprechenden Leitungsröhren fast die gleiche Keimzahl enthielten, und zwar sind die ermittelten Zahlen folgende:

pro 1 ccm

Wasser aus der	Juli	August	September
I. Wurmbach-Leitung . . .	10	9	9
II. Weinstock- „	10	10	11
III. Brandlschroffen-Leitung . .	11	10	10
IV. Klarahof-Leitung	11	10	9

Diese Zahlen sind, gleich den vorigen, als Durchschnittszahlen aus je fünf Untersuchungen gewonnen worden.

Der Pumpbrunnen des pathologisch-anatomischen Institutes beherbergte, wie mich 26 diesbezügliche Untersuchungen belehrten, im Durchschnitt 40 Keime in 1 ccm.

Der Zusammenstellung meiner Untersuchung über das Verhalten der pathogenen Bacterien im Wasser, ersehe ich als nothwendig, einige Worte, die gefundenen Bacterienarten und ihre Vermehrungsgeschwindigkeit bei 8 ^{0} C. betreffend, vorauszuschicken.

Es wurden im Ganzen 7 Bacterienarten gefunden:

A. Festwachsende Arten:

I. Micrococcus radiatus nonliquefaciens.

Coccen von 0,8 bis 1,2 μ Durchmesser ohne charakteristische Gruppirung. — Bildet auf der Platte mässig grosse, bräunliche Colonien, welche an ihrem Rande einzelne lichtere, strahlenartige Auswüchse besitzen, die sich in einem zierlichen Strahlenkranze verbinden. Die Oberfläche der Colonien rissig, braungelb, glänzend. Die in der Tiefe der Platte aufgewachsenen Colonien entbehren der strahlenförmigen Auswüchse, sind rund oder wetzsteinförmig. An der Oberfläche der Stichculturen gleiches Verhalten wie auf der Platte, im Stichkanal einzelne braune, kugelige Colonien, aus denen nach 6—8 Tagen strahlenartige Auswüchse herausgehen. Am Agar-Agar braungelber, leicht abstreifbarer Belag, auf Kartoffeln spärliches Wachsthum als braune, trockene, leicht abhebbare Auflagerung. Wächst auch ohne Luft. Constanter Bewohner der Brandlschroffen- und Weinstockquellenleitung, wie auch des Pumpbrunnens im pathologischen Institut.

II. Micrococcus viticulosus. Flügge.

Ovale Coccen, fast durchwegs 1 μ Durchmesser vorzeigend, in unregelmässigen Haufen vorkommend. Bildet auf der Platte gelblich-weisse, hauchartige Auflagerungen mit dunklem Centrum und unregelmässigen, fein ausgezackten Rändern, aus denen feine, haarartige, ein Maschenwerk bildende Ranken, sowohl an die Oberfläche wie auch in die Tiefe der Platte ausgehen. Wächst üppig im Stichkanal, aus dem ein Fadennetz in die Gelatine ausgeht. Oberflächliche Ausbildung in Form einer Nagelcultur. Auf Kartoffeln wächst er als zarter, trockener Belag von schmutzigweisser Farbe. Wächst auch ohne Luft. Bewohner der Wurmbach- und Klarahofleitung.

III. Pigmentproducirender Bacillus.

Bacillen von verschiedener Grösse mit abgerundeten Enden, manchmal zu Fäden verbunden, langsam beweglich. Bildet auf der Platte hellgelbe, runde Colonien von unregelmässig gebuchteter Oberfläche und scharfen Contouren, die schon nach einem Tag durch eine hellbraune Zone begrenzt werden, welche mit der Zeit etwas nachdunkelt und schnell die freie Gelatine einnimmt. Im Stichkanal gekörntes Wachsthum von gelber Farbe mit eben solcher knopfartiger Auflagerung, die sich bald zierlich verzweigt und die ganze Oberfläche einnimmt. Schon nach 3 Tagen beginnt die Gelatine von der Oberfläche aus einen hell- später rothbraunen Farbenton anzunehmen, der ziemlich rasch fortschreitet und nach 6 bis 8 Tagen den ganzen Eprouvetteninhalt einnimmt, wobei die gelben Colonien verblassen. Auf dem Agar-Agar saftige, gelbe Auflagerung, auf Kartoffeln ebensolcher zarter Belag, ohne Verfärbung des Nährbodens. Wächst langsam ohne Luft, wächst auch auf saurem Nährboden, im stark alkalischen, keine Pigmentproduction. Pigment weder in Alkohol noch Aether und Chloroform löslich. Gefunden fast constant im Wurmbachquellwasser und im Brunnen des pathologisch-anatomischen Institutes.

IV. Gelber, grün fluorescirender Bacillus.

Bacillen von verschiedener Grösse, manchmal zu Scheinfäden verbunden, beweglich ohne Sporenbildung, bilden runde, hellgelbe Colonien von scharfen Contouren und lichterem Rand, welche schon nach einem Tag mit einer schmalen, grün fluorescirenden Zone umgeben sind. Dieselbe Zone breitet sich sehr schnell aus, wobei die ganzen Platten einen grünen Farbenton annehmen. In Stichculturen gelber Belag des Stichkanals und eben solcher, oberflächlicher Pilzrasen. Nach einem Tag macht sich der grün fluorescirende Farbenton in der Gelatine bemerkbar, und schreitet von der Oberfläche an weiter, so dass der ganze Inhalt binnen 5 bis 6 Tagen grün fluorescirt. Am Agar-Agar gelber, saftiger Belag mit grüner Fluorescenz des Nährbodens. Auf Kartoffeln schwach ausgebildeter, gelber Rasen. Wächst schnell und gar

nicht ohne Luft. Gefunden im Brunnenwasser und in der Wurmbachleitung.

B. Verflüssigende Arten:

V. Weisser Bacillus.

Stäbchen verschiedener Grösse, hier und da in Scheinfäden verbunden, beweglich, bildet kleine, weisse, runde Colonien mit scharfen Contouren und rissiger Oberfläche. Nach eintägigem Bestehen werden die Colonien durch eine schmale Zone umgeben und sinken dellenartig ein. Am Boden der Delle strahlenartig angeordneter, weisser Bodensatz. Die Colonie vergrössert sich binnen fünf Tagen zu 1 cm Durchmesser. In Stichculturen zarter, weisser Belag der Oberfläche und des Stichkanals, nach einem Tag dellenartige Vertiefung, nach vier Tagen vollständige Verflüssigung des Nährbodens. Auf Agar und Kartoffeln weisser, saftiger Belag. Wächst auch ohne Luft, gefunden in der Weinstock-, Brandlschroffen-, Klarahofleitung und im Brunnenwasser.

VI. Gelber, verflüssigender Bacillus.

Bacillen mit abgerundeten Enden, unbeweglich, keine Sporen bildend. Bildet kleine gelbe, runde oder ovale Colonien mit ausgezackten Rändern und rissiger Oberfläche. Nach zwei Tagen zeigen sich an deren Peripherie strahlige Auswüchse und die Colonie sinkt ein, indem sie 2½ mm Durchmesser erreicht hat. Im Stichkanal homogener, citronengelber Belag und Verflüssigung des Nährbodens binnen 7 Tagen. Am Agar und Kartoffeln gelber, saftiger, schnell wachsender Belag. Wächst nicht ohne Luft. In sämmtlichen Wassern vorkommend.

VII. Weiss-gelblicher Bacillus.

Bewegliche Bacillen oft zu Fäden verbunden, welche als weisse, wetzsteinförmige oder runde, in der Mitte citronengelb gefärbte mit concentrisch gestalteter Oberfläche versehene Colonien wachsen. Greifen schnell um sich, indem sie die Gelatine mässig rasch verflüssigen unter Bildung eines süsslichen Geruchs. Im Stichkanal anfangs gekörntes Wachsthum von weiss-gelb gefärbten

Pilzmassen. Am 3. Tag Beginn der trichterförmigen Verflüssigung, welche recht langsam fortschreitet und binnen 10—14 Tagen zur Verflüssigung des Inhaltes und Bildung eines weiss-gelblichen Bodensatzes führt. Am Agar weissen Belag, auf Kartoffeln weissgelblichen Rasen bildend. Wächst, obwohl langsam, auch ohne Luft. Gefunden im Brunnenwasser und in der Brandlschroffenleitung.

Wie aus der Beschreibung der constant aufgefundenen Arten leicht ersichtlich, bieten dieselben sehr markante, culturelle Unterschiede von den zur Untersuchung benützten pathogenen Spaltpilzen, wodurch die genaue Differenzirung wesentlich erleichtert war.

Da ich über keinen, auf niedere Temperatur eingerichteten Thermostaten verfügen konnte, bediente ich mich zu meiner Untersuchung folgenden einfachen Verfahrens. Nachdem ich mich durch stündliche Beobachtung und Anwendung von Maximum- und Minimumthermometer überzeugt hatte, dass der Leitungswasserstrahl des pathologisch-anatomischen Institutes (gespeist von der Klarahofquellenleitung) 8 ° C. besitzt, stellte ich die mit untersuchtem Wasser gefüllten Erlmayer'schen Kolben, welche nebst den Wattepfropfen noch mit dreifachen Guttaperchakappen verschlossen waren, unter das Auslaufrohr und liess dieselben tagelang vom Wasser berieseln. Vergleichende Untersuchungen, wo durch den Wattepfropfen Thermometer eingesetzt wurden, lehrten mich, dass bei genügend schnellem Abfliessen des Ueberwassers die Temperatur im Innern der Kölbchen schon nach 1/4 Stunde der des Leitungswassers gleicht und constant bleibt. Da die Untersuchung im kühlen und genügend grossen Raum geschah, konnte ich nur ein einzigesmal und zwar infolge einer Störung in der Leitung eine kurze Differenz beobachten. Behufs Constatirung der Vermehrungsgeschwindigkeit der einzelnen aufgefundenen Wasserbacterien im vorher genau, durch 1/2 stündiges Verbleiben im Wasserdampf, sterilisirten Wasser der einzelnen Leitungen und des Brunnens, wurden die mit 120 ccm gefüllten Kolben mit je 0,1 ccm einer, mit destillirtem, sterilen Wasser bereiteten Aufschwemmung der einzelnen Arten inficirt. Die Anzahl der Keime wurde sofort und nach dem Verbleiben in dem

die constante Temperatur 8° C. zeigenden Leitungswasser täglich durch das Plattenverfahren bestimmt. Die diesbezüglichen Ergebnisse lassen sich in folgende Tabelle zusammenstellen:

Tabelle I.

Sterilisirtes Wasser aus	Art der Bacterien	Anzahl der Keime								
		sofort	nach Tagen							
			1	2	3	4	5	6	7	8
Wurmbach-quellen-Leitung	I	300	300	360	390	—	450	490	—	490
	II	260	265	350	—	390	—	520	—	560
	III	210	240	300	300	310	—	350	355	370
	IV	180	200	200	210	240	280	320	—	325
	V	195	206	235	—	270	310	310	300	310
	VI	170	170	170	170	260	265	300	—	310
	VII	100	100	—	143	—	190	210	240	280
Weinstock-quellen-Leitung	I	80	100	100	—	160	210	—	250	—
	II	100	—	—	210	250	—	500	—	560
	III	100	—	165	200	200	—	255	300	300
	IV	160	—	210	—	—	—	255	—	340
	V	190	—	220	250	290	—	270	—	222
	VI	200	—	210	—	260	—	290	350	350
	VII	240	300	—	310	—	365	390	—	406
Brandl-schroffen-quellen-Leitung	I	100	—	125	160	190	210	—	320	—
	II	250	—	—	—	360	—	390	—	540
	III	290	310	—	360	—	380	—	395	410
	IV	90	—	140	—	195	—	300	360	500
	V	100	—	110	160	190	—	210	—	210
	VI	100	100	100	210	—	290	300	300	—
	VII	50	110	160	162	200	—	200	250	—
Klarahof-quellen-Leitung	I	350	500	—	—	—	—	—	522	460
	II	210	—	—	310	—	—	400	—	500
	III	180	—	222	—	260	—	290	—	325
	IV	40	120	—	195	—	290	—	290	360
	V	10	—	90	—	270	—	310	—	460
	VI	35	—	131	—	270	290	360	385	—
	VII	10	70	106	160	—	275	310	330	390
Brunnen-wasser	I	90	160	—	460	—	704	—	600	600
	II	110	—	—	—	410	—	490	560	710
	III	250	—	—	—	—	960	—	990	996
	IV	100	—	210	—	320	—	410	429	510
	V	60	—	131	—	—	290	316	—	500
	VI	40	100	—	196	—	296	390	—	640
	VII	25	90	160	—	236	—	374	460	510

Eine jede oben notirte Zahl bildet den Durchschnitt aus dem Ergebnisse der Zählungen, die immer auf 3—4 Platten vorgenommen wurden, wobei die bei Anwendung von 0,01—0,04 ccm des Wassers gewonnenen Zahlen auf 1 ccm berechnet wurden. Obwohl die Differenzen zwischen den einzelnen Tagen sehr minimal und trotz der genauesten Untersuchung innerhalb der Fehlergrenzen liegen können, lässt sich eine constante, obwohl langsame Vermehrung der gefundenen Bacterien bei Temperatur 8 ° C. nicht abstreiten.

Behufs Constatirung, ob die im Wasser vorhandenen Keime neben einander ebenfalls bei derselben Temperatur eine Vermehrung vorzeigen, habe ich gleichzeitig eine Reihe von Untersuchungen in dieser Richtung angestellt, und zwar wurde sofort nach der Füllung der sterilen Gläser, wie auch nach dem Verbleiben in Temperatur 8 ° C., der Bacteriengehalt nota bene in nicht sterilisirtem Wasser bestimmt. Die diesbezüglichen Zahlen zeigt Tabelle II.

Tabelle II.

Nicht-sterilisirtes Wasser	Anzahl der Keime								
	sofort	nach Tagen							
		1	2	3	4	5	6	7	8
Wurmbach-Leitung . . .	7	—	100	190	—	270	—	300	300
Brandlschroffen-Leitung . .	8	—	110	210	—	300	221	—	500
Klarahof-Leitung	9	70	125	260	—	353	—	470	495
Weinstock-Leitung . . .	10	110	—	190	260	—	300	360	410
Brunnenwasser	39	200	200	—	310	360	460	490	533

Ein Blick auf die beiden Tabellen belehrt, dass sowohl in vorher keimfrei gemachtem, wie auch in nicht sterilisirtem Wasser bei dieser Temperatur eine Vermehrung der Wasserbacterien möglich ist, dass dieselbe im zweiten Falle eine raschere ist,

was wahrscheinlich durch die, durch Hitze bedingte Veränderung der den Nährboden bildenden Verbindungen zu erklären wäre, dass endlich die bei der Untersuchung gefundenen Arten keineswegs zu den sich rasch vermehrenden hinzugezählt werden dürfen. Es muss noch bemerkt werden, dass vor jeder Entnahme der Probe, selbst auf die Gefahr hin durch Trennung einzelner Bacterienverbände einen Fehler zu erzeugen, dieselbe geschüttelt wurde, da mich einzelne Untersuchungen belehrten, dass die gefundenen Arten eine grosse Neigung zur Sedimentirung zeigen, wodurch ein noch grösserer Fehler begangen werden könnte. Nach diesen Versuchen, deren Anstellung mir geboten schien, inficirte ich die einzelnen, frisch entnommenen Wasserproben mit Aufschwemmungen aus Agar-Agarculturen der Typhus- und Cholerabacterien, und nachdem die Bacterienanzahl sofort durch Plattenverfahren bestimmt wurde, stellte ich dieselben, wohlverschlossen, unter den Wasserleitungsstrahl. Bemerkt sein muss, dass die Lebensfähigkeit der zur Untersuchung verwendeten Culturen nichts zu wünschen übrig liess. Da ich zu meinen Versuchen nur sporenfreien Milzbrand benützte (sporenhaltiger Milzbrand behält nach den Untersuchungen von Koch sehr lange seine Entwickelungsfähigkeit) und ich mich überzeugt habe, wie schwer es hält, sporenfreie Culturen zu bekommen, musste ich bei meinen Versuchen milzbrandhaltiges Kaninchenblut verwenden und zwar auf die Weise, dass einem vor 2 Tagen inficirten Kaninchen unter Anwendung der strengsten Antiseptik aus der Halsvene eine Partie Blut in die Wasserproben geleitet wurde, selbst auf die Gefahr hin, dass das hineingeführte Blut einen guten, obwohl verdünnten Nährboden für die Wasserbacterien bildete. Dies, obschon nicht einwandfreie, Verfahren schien mir in Anbetracht des Umstandes, dass, wie mich meine Untersuchungen belehrten, selbst in den anscheinend sporenfreien Culturen es dennoch eine Anzahl sporenhaltiger Bacillen gibt, als das rathsamere, da sonst das Vorhandensein der Sporen im Wasser die Genauigkeit der Ergebnisse stören könnte.

Tabelle III.
Versuche mit Typhus-Bacillen.

	Wasserprobe	Anzahl d. Wasserbacterien sofort	der Typhuskeime sofort	nach Tagen 1	2	3	4	5	6	7
Versuch I	Brunnenwasser . . .	38	1090	1000	700	500	210	0	0	0
	Wurmbach-Leitung . .	7	26000	2100	14000	6100	2000	641	0	0
	Brandlschroffen-Leitung	10	3000	1900	1400	710	90	0	0	0
	Weinstock-Leitung . .	10	36000	24000	17000	4000	1500	310	10	0
	Klarahof-Leitung . . .	9	500	210	80	25	10	0	0	0
Versuch II	Brunnenwasser . . .	40	100	100	60	21	0	0	0	0
	Wurmbach-Leitung . .	10	500	240	130	40	10	0	0	0
	Brandlschroffen-Leitung	9	200	96	—	12	0	0	0	0
	Weinstock-Leitung . .	10	4600	1600	700	400	70	10	0	0
	Klarahof-Leitung . . .	9	2800	—	1060	320	16	1	0	0
Versuch III	Brunnenwasser . . .	36	7000	2100	1300	960	300	6	0	0
	Wurmbach-Leitung . .	7	36000	26000	9000	4900	1300	260	8	0
	Brandlschroffen-Leitung	8	5000	2100	1000	760	260	41	0	0
	Weinstock-Leitung . .	8	70	—	3	0	0	0	0	0
	Klarahof-Leitung . . .	9	40	26	2	0	0	0	0	0

Tabelle IV.
Versuche mit Koch's Cholera-Vibrionen.

	Wasserprobe	Anzahl der Wasserkeime sofort	der Cholerakeime sofort	nach Tagen 1	2	3	4	5	6	7
Versuch I	Brunnenwasser . . .	36	21600	6000	70	0	0	0	0	0
	Wurmbach-Leitung . .	9	8000	1200	60	0	0	0	0	0
	Brandlschroffen-Leitung	9	6000	1300	41	0	0	—	0	0
	Weinstock-Leitung . .	10	1000	564	46	0	0	—	0	0
	Klarahof-Leitung . . .	10	10000	4300	—	0	0	0	0	0
Versuch II	Brunnenwasser . . .	39	700	40	0	—	0	0	0	0
	Wurmbach-Leitung . .	9	100	6	0	0	0	0	0	0
	Brandlschroffen-Leitung	8	250	46	6	0	0	0	0	—
	Weinstock-Leitung . .	8	1000	600	30	0	0	—	0	0
	Klarahof-Leitung . . .	9	500	171	2	0	0	0	—	0
Versuch III	Brunnenwasser . . .	46	600	20	0	0	—	0	0	—
	Wurmbach-Leitung . .	10	36000	11000	700	14	0	0	0	0
	Brandlschroffen-Leitung	10	9000	1700	200	0	0	0	0	0
	Weinstock-Leitung . .	8	700	47	0	0	—	0	0	0
	Klarahof-Leitung . . .	8	40000	11000	900	30	0	0	0	0

Tabelle V.
Versuche mit Milzbrandbacillen.

	Wasserprobe	Anzahl der Wasserbacterien sofort	Anzahl der Milzbrandkeime sofort	nach Tagen 1	2	3	4	5	6	7
Versuch I	Brunnenwasser . . .	39	11000	7000	263	10	0	0	0	0
	Wurmbach-Leitung . .	8	6000	2000	400	6	0	0	—	0
	Brandlschroffen-Leitung	10	1060	320	20	0	0	—	—	0
	Weinstock-Leitung . .	10	6400	1000	300	10	0	0	0	0
	Klarahof-Leitung . . .	9	2100	700	48	0	0	0	0	—
Versuch II	Brunnenwasser . . .	38	700	16	0	0	0	—	0	0
	Wurmbach-Leitung . .	8	300	40	0	0	0	—	0	0
	Brandlschroffen-Leitung	10	100	13	2	0	0	0	0	—
	Weinstock-Leitung . .	10	60	19	0	—	0	0	0	0
	Klarahof-Leitung . . .	8	25	0	0	0	0	0	0	0
Versuch III	Brunnenwasser . . .	41	800	49	2	0	0	0	0	0
	Wurmbach-Leitung . .	8	10000	3600	440	7	0	—	0	0
	Brandlschroffen-Leitung	9	6000	1600	500	40	0	0	0	0
	Weinstock-Leitung . .	9	1500	470	19	1	0	0	0	0
	Klarahof-Leitung . . .	7	7000	2000	614	28	0	—	0	0

Die vorstehenden Ergebnisse zeigen darauf hin, dass die zur Untersuchung verwendeten pathogenen Pilze im Wasser weder sich vermehren, noch überhaupt zu leben im Stande sind. Bei Anwendung grosser Mengen von Typhusbacillen, wo die zur Infection benützte Anzahl von Keimen 36000 betrug, vermochten dieselben sich dennoch 6 Tage zu halten, während die Koch'schen Vibrionen, die in grosser Anzahl eingeführt wurden, ein einzigesmal 72 Stunden, und sporenfreier Milzbrand sich selten auch nur für so lange Zeit halten konnte. Das Absterben der Keime scheint einerseits in den ungünstigen Temperaturverhältnissen, und andererseits in der raschen Vermehrung der Wasserbacterien seine Ursache zu haben.

Bei meinen Untersuchungen befand ich mich insofern in günstigeren Verhältnissen, Dr. Kraus gegenüber, als ich meine Untersuchungen auf keimärmere und sich verhältnismässig langsam vermehrende Wasserbacterien beherbergende Wasser, ausgedehnt habe, und dadurch scheint sich zu erklären, warum bei meinen Versuchen die Koch'schen Vibrionen sich um einen Tag länger

als dies bei den Untersuchungen von Dr. Kraus der Fall war, im Wasser hielten.

Ich habe in einzelnen Fällen, nebst der Zählung der vorhandenen pathogenen Keime auf den Platten, die Zählungen der Wasserkeime vorgenommen. Dieselben belehrten mich, dass die absterbenden pathogenen Mikroorganismen im Wasser einen günstigen Moment für die Vermehrungsgeschwindigkeit der Wasserkeime bildeten; denn obwohl die Temperaturverhältnisse und die Wassermenge dieselben blieben, verhielt sich die Vermehrungsgeschwindigkeit der letzteren viel energischer, als dies aus Tabelle II ersichtlich ist. So z. B. entwickelten sich, wie dies auf Tabelle II ersichtlich, die 8 Wasserbacterienkeime im Brandlschroffenleitungswasser binnen 3 Tagen zu 210, binnen 8 Tagen zu 500 Colonien. Dieselben 8 Keime, zu denen 9000 Choleravibrionen zugesetzt waren, waren schon nach 3 Tagen in 1800 Colonien, in 7 Tagen in 17000 Colonien vertreten. Ein Beweis dafür, dass hier eine Vermehrung des Nährmaterials, welches offenbar durch die absterbenden pathogenen Keime gebildet wurde, stattfand.

Die sporenfreien Milzbrandbacillen, die in verhältnismässig geringer Menge dem Wasser zugesetzt wurden, vermochten den ungünstigen Temperaturverhältnissen und dem Einfluss der sich vermehrenden Wasserkeime nicht länger als 3 Tage Stand zu halten. Die letzteren vermehrten sich infolge des Zusatzes des Nährmaterials ungemein rasch, und einige diesbezügliche Zahlen zeigten, dass z. B. 10 ursprünglich vorhandene Wasserkeime sich in 4 Tagen zu 14000 Colonien vermehrten, während dieselben im nichtinficirten Wasser kaum die Zahl 300 erreichten.

In Beantwortung der Frage, ob eine Infection durch Trinkwasser entstehen könnte, dürfte man überhaupt nur mit natürlichen und nicht mit künstlichen Verhältnissen rechnen. Die Untersuchungen von Dr. Kraus, denen sich meine hier gegebenen Forschungen anschliessen, berücksichtigten einen nicht zu unterschätzenden, wichtigen Moment, und zwar die Temperaturverhältnisse des Wassers. Wenn man berücksichtigt, dass die kleine 2—8 ccm Zugabe von Blut zum Wasser, die Vermehrungsgeschwindigkeit der Wasserkeime so wesentlich begünstigt hat,

wie gross muss erst derselbe Einfluss bei Zufluss organischer Abfallstoffe, in denen doch nach der contagionistischen Anschauung die pathogenen Keime enthalten sein müssen, sein? Ich möchte an dieser Stelle einige diesbezügliche Versuche, die leider aus von mir unabhängigen Umständen abgebrochen sein mussten, anschliessen. Zu 120 ccm eines übelriechenden Tümpelwassers, welches, wie dies durch Plattenverfahren constatirt wurde, 7500 verschiedene Keime im Cubikcentimeter enthielt, wurden 16000 Typhuskeime aus einer Agarculturaufschwemmung zugesetzt, und dasselbe Wasser unter dem Wasserstrahl bei 8° C. gehalten. Auf Platten, die nach einem Tag gegossen wurden, und wo durch Anwendung eines entsprechenden Verdünnungsverfahrens die Anzahl der Keime überhaupt auf einer Platte kaum 60 betrug, konnte keine einzige Typhuscolonie nachgewiesen werden, obwohl an jenem Tage 32 Platten aus der inficirten Probe gegossen wurden. Es entwickelten sich wohl Colonien, die ihrem Aussehen nach den Typhuscolonien glichen, welche aber abgeimpft und weitergezüchtet absolut keine Aehnlichkeit mit den gesuchten Typhusbacillen hatten. — Ein andermal setzte ich einem bacterienreichen Kanalwasser 1 ccm Typhusaufschwemmung zu und ermittelte sofort die Anzahl der vorhandenen Typhuskeime, welche in diesem Falle 39000 Colonien im Cubikcentimeter betrug. Am nächsten Tage konnten absolut keine Typhuskeime auf 24 mit verschiedenen Verdünnungen hergestellten Platten nachgewiesen werden. Hier spielten gewiss neben den ungünstigen Temperaturverhältnissen die vorhandenen saprophytischen Keime eine grosse Rolle.

Dass es sich bei meinen Versuchen um wirkliches Absterben und nicht etwa um eine Sedimentirung der eingeführten Keime handelte, konnte ich mich dadurch überzeugen, dass ich vor jeder täglichen Entnahme der Wasserprobe das Kölbchen umschüttelte, andererseits belehrten mich, mit aller Sorgfalt aus verschiedenen Wasserschichten entnommene Proben, dass die Differenz zwischen der Anzahl der Keime überhaupt, und der

---

1) Um etwaigen Missverständnissen vorzubeugen, erkläre ich hier, dass die Zählungen auf Platten, welche durch Anwendung eines entsprechenden Verdünnungsverfahrens mit 0,001 ccm gegossen wurden, vorgenommen worden sind.

Anzahl in verschiedenen Tiefen, keine bemerkenswerthe war, und dass, falls in den oberen Schichten überhaupt keine pathogenen Keime zu finden waren, dieselben auch in den tieferen gänzlich fehlten.

Gelegentlich meiner Wasseruntersuchungen, die ich auf verschiedene stehende und fliessende Gewässer Innsbrucks ausgedehnt habe, begegnete ich sehr oft Bacterien, deren Colonien den Typhuscolonien zum Verwechseln ähnlich schienen und bei denen erst die Züchtung auf verschiedenen Nährböden zur Differenzirung führte. Selbst das bis jetzt als charakteristisch (obwohl gar nicht constante) anerkannte Wachsthum auf Kartoffelscheiben scheint mir nicht ganz genügend zu sein; denn es gelang mir, aus dem Flusswasser unterhalb der Stadt Innsbruck einen Bacillus zu züchten, dessen Colonien an der 10 proc. Nährgelatine und Aussehen der Kartoffelculturen vollkommen den, den Typhusbacterien eigenen glichen, welcher aber *nicht alkalisirte* 7 proc. Gelatine verflüssigte und auf Glycerinagarnährboden gelblichen Rasen bildete. Hätte mir nicht der Zufall diese Nährböden in die Hände gespielt, müsste ich den vorgefundenen Pilz als Typhusbacillus ansehen.

Wie viel von den angeblichen Typhusbacillenentdeckungen im Brunnen- und Flusswasser der Voreingenommenheit der Forscher und der ungenügenden Differenzirung der gefundenen *typhusähnlichen* Colonien zuzuschreiben sind, entzieht sich meiner Beurtheilung. Meine Untersuchungen können nur die Beobachtungen Dr. *Kraus'* bestätigen, und dieselben auf Wasser mit Temperatur 8 ° C. ausdehnen.